Aus der Bayerischen Veterinärpolizeilichen Anstalt in Schleißheim.
(Direktor: Prof. Dr. Beck).

Beitrag zur Serodiagnose der Pferdebrucellose.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der tierärztlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
in München

vorgelegt von

Hans Sczuka

appr. Tierarzt

aus Neu-Berun, Kreis Pless.

München 1938.

Gedruckt mit Genehmigung der tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Referent: Prof. Dr. Ernst.

Mündliche Prüfung am 22. 12. 1938.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literatur	1
3. Eigene Untersuchungen	8
A. Untersuchungen mit Hilfe der Langsamagglutination	8
a. Beschreibung der Technik der Langsamagglutination	8
b. Untersuchungen	9
B. Langsamagglutination und Serumschnellagglutination nach Diernhofer	14
a. Beschreibung der Technik der Serumschnellagglutination	14
b. Untersuchungen	14
C. Langsamagglutination und Meinicke-Reaktion	24
a. Beschreibung der Technik der Meinicke-Reaktion	24
b. Untersuchungen	28
D. Meinicke- und Diernhofer-Reaktion	32
4. Schlußbetrachtung	37
5. Zusammenfassung	38
6. Schrifttum	39
7. Lebenslauf	42

Einleitung.

Die Frage, von welchem Verdünnungsgrad an man bei der Agglutinationsprobe beim Rind von einer Brucella-Bang-Infektion sprechen kann, ist für die Untersuchungsstellen durch die Anweisung des Reichsgesundheitsamts zur Ministerialbekanntmachung über die Bekämpfung des seuchenhaften Verkalbens (Banginfektion des Rindes) vom 23. 12. 1936 (Nr. 653 b 86) festgelegt. Diese Anweisung bestimmt:

„Bei den veterinärpolizeilichen Untersuchungen ist jedes Serum zunächst mit der Agglutination zu prüfen. Für die Beurteilung dieser Prüfung gilt folgendes:

Ein verneinendes Ergebnis liegt vor, wenn das Blutserum in der Verdünnung von 1 : 50 keine Agglutination der Testflüssigkeit bewirkt;

ein zweifelhaftes Ergebnis liegt vor, wenn das Blutserum in der Verdünnung von 1 : 50 eine Agglutination der Testflüssigkeit bewirkt;

ein bejahendes Ergebnis liegt vor, wenn das Blutserum in der Verdünnung 1 : 100 oder in höheren Verdünnungen eine Agglutination der Testflüssigkeit bewirkt.

Zweifelhafte Agglutinationsergebnisse sind mit der Meinicke-Reaktion weiter zu prüfen. Das bejahende oder verneinende Ergebnis der Meinicke-Reaktion ist in diesen Fällen entscheidend. Fällt auch die Meinicke-Reaktion zweifelhaft aus, so kann frühestens nach Ablauf von 14 Tagen eine neue Blutprobe untersucht werden . . ."

Die Zunahme der Untersuchungen von Blutproben von Pferden mit Brucelloseverdacht läßt es erwünscht erscheinen, auch beim Pferd eine sichere Beurteilungsgrundlage für die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen zu schaffen, zumal für die Untersuchungsämter in der Regel nicht die Möglichkeit besteht, mangels eines entsprechenden Vorberichtes, die Krankheitsgeschichte für die Beurteilung heranzuziehen.

Von diesem Gesichtspunkt aus habe ich das Thema betrachtet, zu dem mich Herr Direktor Prof. Dr. Beck von der Veterinärpolizeilichen Anstalt in Schleißheim anregte.

1. Literatur.

Die eingehende Beschäftigung mit der einschlägigen Literatur läßt erkennen, daß über die Brucellose der Pferde und auch ihre serologische Diagnose viele Arbeiten veröffentlicht sind. Die meisten Autoren haben sich aber mit der Frage des positiven Titers nicht

weiter beschäftigt. Sie sahen die Titergrenze als selbstverständlich an und äußerten sich entweder gar nicht oder aber sie setzten — zum Teil wohl vom Rind ausgehend — den Grenztiter einfach fest. Eine zweite, weit kleinere Gruppe von Autoren suchte sich auf Grund eigener Untersuchungen an mehr oder weniger reichem Untersuchungsmaterial und auf Grund der erhobenen Vorberichte bezw. Krankheitsgeschichten ein eigenes Urteil zu bilden.

Aus Gründen der Zweckmäßigkeit und Raumersparnis sollen diese beiden Gruppen getrennt behandelt werden und abschließend eine zusammenfassende kurze Übersicht über die Ansichten beider Gruppen gegeben werden. Zu den Ergebnissen der einzelnen Autoren in Form von vergleichenden Betrachtungen soll der besseren Übersicht halber bei der Auswertung meiner eigenen Untersuchungen Stellung genommen werden.

Die erste Gruppe, die sich meines Wissens nach nicht weiter mit der Festlegung einer Titergrenze auf Grund eigener Versuche befaßt hat, möchte ich nur kurz erwähnen, da nur die etwa angenommene Titergrenze hier interessiert.

Keine Schlüsse über einen Grenztiter lassen sich ziehen aus den Veröffentlichungen von Sachweh (27), Stickdorn und Zeh (33), Fontaine und Lütje (7), Leipert (20), Mc Nutt und Murray (24), Hultén (16), Hieronymi (11), Magnusson (22), Jesina (17), Duff (3 und 4), Schilling und Schmid (30) u. a. Genannte Verfasser berichten lediglich zum Teil über vereinzelte Fälle von Stutenabortus, zum Teil über Fälle von Widerrist- und Genickschäden bei Pferden, bei denen serologisch (meist mit hohen Agglutinationstitern) eine Banginfektion festgestellt wurde.

Nachstehende Autoren hielten bei folgenden Agglutinationswerten eine Banginfektion für nachgewiesen: Bennets and Filmer (1) bei einem Agglutinationswert von 1 : 100, Makkawejsky u. a. (23) bei 1 : 100, van der Hoeden (13, 14 und 15) bei 1 : 100, Pfaffe (25) bei 1 : 55, Hermann, Chluscow u. a. (10) bei 1 : 100, (1 : 50 zweifelhaft, unter 1 : 50 negativ), Lanfranchi (19) bei 1 : 100, Freund (8) bei 1 : 80.

Im Folgenden führe ich die Gruppe von Autoren an, die nicht einfach eine Titergrenze festsetzten, sondern sich auf Grund eigener Untersuchungen (z. T. nur sogen. Kontrollversuche) ein Urteil bildeten. Über ihre Ergebnisse soll daher ausführlich berichtet werden.

Die Franzosen Rinjard und Hilger (26) fanden im Jahre 1928 von 15 Pferden, die an Widerrist- und Genickschäden litten, in 13 Fällen 5 mal den Agglutinationswert von 1 : 100, 1 mal von 1 : 200, 3 mal von 1 : 300, 1 mal von 1 : 400, 1 mal von 1 : 500 und 1 mal 1 : 1000. Die restlichen 2 Seren reagierten

in der Verdünnung 1 : 50 negativ. Von 41 Kontrollpferden agglutinierte dagegen nur eins bei 1 : 50, ein zweites bei 1 : 30, alle anderen nicht. Rinjard und Hilger nehmen daher an, daß die Agglutinationswerte von normalem Pferdeserum außerordentlich schwach sind und bei einer Verdünnung von 1 : 30 liegen. Sie glauben von der Verdünnung 1 : 50 ab eine positive Serodiagnose stellen zu können.

Im Jahre 1930 stellten in Amerika Fitch, Delez und Boyd (5) in 42 von 46 Fällen von Pferden mit Widerrist- und Genickschäden, die nach ihnen als positives Agglutinationsergebnis zu wertenden Endtiter von 1 : 100 bis 1 : 1000 fest, da von 48 Kontrollseren nur 3 einen Titer von 1 : 100 und darüber hatten (2 mal 1 : 100 und 1 mal 1 : 250), eines reagierte bei 1 : 50, alle anderen reagierten nicht.

Zwei Jahre später folgern Fitch, Bishop und Boyd (6) aus der Tatsache, daß von 61 Pferden mit Widerrist- und Nackenfisteln 48 einen Agglutinationstiter von 1 : 100 und darüber zeigten, aber von 31 Eiterproben nur in 7 Fällen den Erreger kulturell nachweisen konnten, daß ein Bluttiter von 1 : 100 und darüber beim Pferd noch keinen sicheren Anhaltspunkt für die Annahme einer aktiven Banginfektion bietet.

Wie Schoop (31 und 32) in 2 Veröffentlichungen (1932 und 1935) mitteilt, untersuchte er im ganzen 44 Fälle von Widerrist- und Genickschäden. Von diesen agglutinierten 25 in den Verdünnungen 1 : 200 bis 1 : 5000. Dreimal traten Agglutinationswerte von 1 : 100 auf (in einem dieser Fälle gelang der Nachweis der Brucellen im Meerschweinchenversuch), einmal betrug der Agglutinationswert 1 : 50. Die Seren der restlichen Pferde reagierten nicht (eines von diesen zeigte positiven Tierversuch, was Schoop auf eine frisch stattgehabte Infektion zurückführt). Vergleichsweise wurden die Seren von 20 Tieren untersucht, die nicht mit derartigen Prozessen behaftet waren. Die Agglutinationsergebnisse waren in der Mehrzahl völlig negativ. Die niedrigste geprüfte Verdünnung betrug 1 : 10. Im Höchstfalle wurde ein Titer von 1 : 50 erreicht. Außerdem wurden die Blutuntersuchungen ausgedehnt auf Metritiden, Brustbeulen etc. Mit 2 Ausnahmen, sogen. „atypischen Fällen“ mit dem Agglutinationswert von 1 : 500 und 1 : 4000 lag der Titer des Serums unter 1 : 50 „wenn überhaupt Agglutinine vorhanden waren“. Schoop beurteilt seine Ergebnisse zusammengefaßt wörtlich: „ . . . Werte unter 100 sind als unverdächtig, von 100 bis 200 als fraglich und von 200 und darüber als positiv anzusehen . . .“.

Anläßlich der alljährlich nach dem Manöver stattfindenden planmäßigen Blutuntersuchungen der Pferde der Wehrmacht machte

Schellner (28) systematische Untersuchungen an 6000 Truppenpferden mit Hilfe der Komplementbildung. Der serologische Nachweis der stattgehabten spezifischen Komplementbindung wurde durch die Feststellung des Agglutinationstiters ergänzt.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß von den 6000 untersuchten Seren 30 = 0,5% eine vollständige Hemmung anzeigten. Der Agglutinationstiter dieser 30 Seren lag in einem Fall unter 100, 11 mal unter 200, 10 mal zwischen 200 und 500 und 8 mal zwischen 500 und 1280. Alle 30 Pferde wurden zur Zeit der Blutuntersuchung als einwandfrei gesund bezeichnet. Bei Durchsicht des Krankentagebuches ergab sich, daß bei 23 Pferden Erkrankungen oder Symptome, die auf eine Banginfektion hätten hinweisen können, nicht beobachtet worden waren. In 5 Fällen wurden abgeheilte, abscedierende Phlegmonen und zweimal eine abgeheilte Widerristfistel mit Erkrankung der Schleimbeutel gemeldet.

Um sich über die Titergrenze, von welcher an die Agglutination (und die Komplementbindung) bei einer Banginfektion des Pferdes als positiv anzusprechen sei, ein eigenes Urteil bilden zu können, wurden von 200 Seren, die sich im Komplementbindungsversuch als negativ erwiesen hatten und die von Pferden stammten, die klinisch gesund waren, Agglutinationsversuche ausgeführt.

Von den 200 Seren zeigten:

27 Seren keine Agglutination	negativ:	= 13,5%
37 Seren eine Agglutination	1 : 16	= 18,5%
35 „ „ „	1 : 32	= 17,5%
55 „ „ „	1 : 64	= 27,5%
45 „ „ „	1 : 100	= 22,5%
1 Serum „ „	1 : 200	= 0,5%.

Auf Grund dieser Ergebnisse betrachtet Schellner einen Agglutinationstiter über 1 : 200 als Ausdruck einer spezifischen Banginfektion.

Er fand also unter 6000 geprüften Seren mit Hilfe der Komplementbindung 30 positive Seren, von denen 18 sowohl eine Komplementbindung wie auch einen höheren Agglutinationstiter als 1 : 200 und 12 eine Komplementbindung, jedoch einen Agglutinationstiter unter 1 : 200 aufwiesen. 10 Pferde zeigten einen Agglutinationstiter von 1 : 500—1280, zu diesen gehörten einmal diejenigen Pferde, bei denen die schon erwähnten „Symptome" einer Banginfektion beobachtet wurden, daneben aber auch 3 Pferde, die völlig gesund waren. In 12 Fällen, in denen die Komplementbindung zwar positiv, die Agglutination jedoch negativ ausfiel (d. h. der Agglutinationstiter unter 1 : 200 war), und in 8 Fällen, in denen eine Komplementbindung und eine (positive) Agglutination

von 1 : 200 bis 1 : 500 beobachtet wurde, waren irgendwelche Anzeichen einer Banginfektion nicht mehr festzustellen.

In zwei Veröffentlichungen berichten Hieronymi und Gilde (12) und Gilde (9) über Untersuchungen, die seit 1931 im Tierärztlichen Institut der Universität Königsberg gemacht wurden. Von insgesamt 53 Pferden mit Widerrist- und Genickleiden wurden in 46 bezw. 43 Fällen (86,78 bezw. 82,72%) Agglutinationstiter von 100—40 000 ermittelt. (Nach Gilde reagierten von diesen 43 Fällen 5 bei der Verdünnung 1 : 100, 3 bei 1 : 200, die übrigen 35 reagierten noch in den hohen Verdünnungen von 1 : 300 bis 1 : 40 000). Obwohl beide Autoren davon ausgingen, daß sie alle Reaktionen mit dem Titer 1 : 100 und mehr als positiv bewerten, wurden doch Kontrollversuche mit den Seren von 105 Pferden angestellt. Diese setzten sich aus gesunden und mit verschiedenen äußeren und inneren Leiden behafteten Tieren zusammen, waren aber frei von Widerrist- und Genickschäden und hatten auch früher nie daran gelitten. Keines dieser Seren agglutinierte bei der Verdünnung 1 : 50 und 1 : 100. Auf Grund dieser Ergebnisse finden beide Autoren ihre Annahme über die Titergrenze bestätigt. Sie glauben daher, daß die Normalagglutinine für Brucella abortus Bang im Pferdeblut unter 1 : 100 liegen, obgleich 2 (3) Pferde mit den Agglutinationstitern 1 : 100 (Brustbeule), 1 : 1000 (eitrige Tarsitis [1 : 1000 (Schmerzhaftigkeit des Halses)] angetroffen wurden. In letztgenannten 3 Fällen, die aus 2 ländlichen Betrieben stammten, herrschte in beiden Betrieben seuchenhaftes Verkalben und in einem von diesen waren auch Widerristfisteln aufgetreten.

Die Untersuchungen von Berge und Haupt (2) erstrecken sich auf einen Bestand von 232 klinisch völlig gesunden Pferden und auf 527 der von 1931—35 in der Chirurgischen Universitätsklinik Leipzig eingestellten Pferde. Die Agglutinationsergebnisse der 232 zur Zeit der Blutuntersuchung klinisch gesunden Pferde waren:

Verdünnung	Anzahl der Pferde 232=100%	Anzahl der Pferde mit früheren Krankheiten 27
0	101 (43,5%)	1 (0,98% der gesunden Pferde)
1 : 25	91 (39,2%)	0 (—)
1 : 50	34 (14,7%)	21 (62% der gesunden Pferde)
1 : 100	5 (2,2%)	4 (80% der gesunden Pferde)
1 : 200	1 (0,4%)	1

Bei den früheren Krankheiten handelt es sich um verschiedene chirurgische und innere Leiden; Widerrist- und Genickschäden sind nicht genannt. — Bei der Auswertung der Ergebnisse kamen Berge und Haupt zu folgenden Schlüssen: Als Normaltiter

des Pferdeserums für Brucella Abortus Bang sei 1 : 25 anzunehmen, ein Titer von 1 : 50 sei als fraglich negativ zu bewerten, Agglutinationsergebnisse von 1 : 100 an seien als positiv zu beurteilen („ohne jedoch damit die früher beobachteten Krankheiten ätiologisch mit Bang'schen Bazillen in Zusammenhang bringen zu wollen".) — Bei den 527 Pferden der Chirurgischen Universitätsklinik handelte es sich um verschiedene chirurgische Krankheiten, darunter 39 Fälle von Widerrist- und Genickleiden. Die Ergebnisse der serologischen Untersuchung und der Widerrist- und Genickleiden sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Verdünnung	Anzahl der kranken Pferde	davon mit Widerrist- und Genickleiden
0	293	7
1 : 25	114	2
1 : 50	77	5
1 : 100	20	8
1 : 200	14	9
1 : 400	4	3
1 : 800	5	5
	527	39

Von 527 Pferden wurden also bei 43 Pferden (7,8%) nach Berge und Haupt positiv zu beurteilende Werte (von 1 : 100 aufwärts) festgestellt. (Von den 39 mit Widerrist- oder Genickleiden behafteten Pferden 25 = 64%). Verdächtig einer Abortus-Infektion (1 : 50) waren 77 Pferde = 14,6%. (5 Widerrist- und Genickleiden = 13%). Unverdächtig einer Abortusinfektion (1 : 25 und keine Agglutination) waren 407 Pferde = 77,6%. (9 Widerrist- und Genickleiden = 22,6%).

Auch Krüger (18), dessen Arbeit nur wenige Wochen nach der von Berge und Haupt herauskam, wollte sich über die Frage, bei welcher kleinsten Verdünnung des Serums eine Brucellose-Infektion beim Pferde als vorliegend erachtet werden könne, auf Grund eigener Untersuchungen selbst ein Urteil bilden. Er untersuchte das Blut von 100 gesunden Heerespferden, also von Pferden, die auf Grund ihres Gesundheitszustandes und zufolge ihrer augenblicklichen jede Berührungsmöglichkeit mit banginfizierten Rindern ausschließende Haltung eine einigermaßen sichere Gewähr dafür gaben, nicht schon Brucellosekeime in sich zu tragen. Von diesen 100 Heerespferden hatten 25 überhaupt keinen Agglutinationstiter. 49 zeigten einen Titer von 50 und 26 einen solchen von 100. Außerdem untersuchte Krüger die Seren von 60 Pferden, die mit den verschiedensten chirurgischen Leiden, ausgenommen Widerrist-

und Genickschäden, behaftet waren. Bei 24 fand sich ein Titer von 1 : 50 und bei 19 ein solcher von 1 : 100, 5 Patienten ließen Werte von 1 : 500 bis 1 : 10 000 erkennen, nur 12 waren ohne jeden Agglutinationsbefund.

Krüger glaubt bei der Auswertung seiner Ergebnisse, daß die Titergrenze sowohl bei 1 : 50 als auch bei 1 : 100 als zu niedrig anzusehen sei und hält es für „genügend gerechtfertigt, wenn er bei einem Agglutinationswert von 1 : 200 den Grenztiter erblickt". Ferner untersuchte Krüger 15 Fälle von Widerrist- und Genickschäden, von denen 2 keine Agglutination aufwiesen, 5 zeigten einen Titer von 1 : 50 und der Rest (8 Pferde) agglutinierte noch in den Verdünnungen von 1 : 1000 bis 1 : 10 000. Laut Vorbericht handelte es sich bei den 7 nach Krüger negativen Fällen um 3 durch mechanische Insulte verursachte Schäden, bei 3 waren keine bestimmten Angaben erlangt worden, während 1 Fall durch die Umweltbedingungen (Pferd im verseuchten Kuhstall) geradezu praedisponiert gewesen wäre.

Neuerdings veröffentlichte Leskova (21) die Ergebnisse seiner Untersuchungen in Österreich. Zur Untersuchung kamen 1100 Pferde. Nach Versuchen mit der Frischblutschnellagglutination, bei der aber keine befriedigenden Ergebnisse herauskamen, untersuchte Leskova die bei der Serumschnellagglutination nach David positiven 407 Fälle (= 37%) auch mit Hilfe der Langsamagglutination. Bei starker Ausflockung bei der Serumschnellagglutination, die in 97 Fällen (= 8,8%) einsetzte, war der Agglutinationstiter in ca. 90% der Fälle 1 : 100 und darüber, während von den insgesamt 407 positiven Fällen nur ca. 30% einen Agglutinationswert von 1 : 100 und darüber aufwiesen.

Zur Festlegung eines Grenztiters greift Leskova außerdem 185 chirurgisch kranke Pferde heraus. Auf Grund der Tatsache, daß eine größere Anzahl der Pferde nur bei den Verdünnungen 1 : 50, 1 : 100 und 1 : 150 positiv agglutinierten und (um der Gefahr der Täuschung durch die Nebenagglutinine zu entgehen und) gestützt auf das häufige Auftreten einer starken Ausflockung bei der Schnellagglutination, die fast immer bei einem Titer von mindestens 1 : 100 aufträte, glaubt Leskova annehmen zu dürfen, daß der Grenztiter sich wahrscheinlich bei 1 : 100 befindet, eine Zahl, der das arithmetische Mittel obiger 3 Agglutinationswerte (98) entspricht.

Zum Schluß meiner Literaturangaben möchte ich noch eine zusammenfassende kurze Übersicht über die angenommene oder auf Grund eigener Untersuchungen festgelegte Titergrenze beider Gruppen in Form einer Tabelle geben.

Von einem als positiv anzusehendem Agglutinationsergebnis sprechen oben angeführte Autoren von folgenden Verdünnungen ab:

1 : 50 Rinjard und Hilger
1 : 55 Pfaffe
1 : 80 Freund
1 : 100 Bennets und Filmer, Makkawejsky u. a., v. d. Hoeden, Herrmann, Chluszow u. a., Lanfranchi und Pacchioni, Fitch, Delez und Boyd, Hieronymi und Gilde, Gilde, Berge und Haupt, Leskova,
1 : 200 Schoop, Krüger
[über 1 : 200] Schellner.

Nach Abschluß meiner Arbeit erschien eine Veröffentlichung von Schellner (29), die sich insbesondere mit der Meinicke-Klärungsreaktion zur Serodiagnose der Brucellose des Pferdes befaßt. Schellner untersuchte nach der in seiner Arbeit angeführten Methode 6000 Pferdeseren, von denen sich 5683 als Meinicke negativ = 93,7%, 78 als Meinicke positiv = 1,3% und 19 als verdächtig erwiesen. Eine deutliche Eigenhemmung zeigten 220 Seren = 3,7%. Mit den Seren, die sich als Meinicke positiv und Meinicke verdächtig erwiesen hatten, wurde u. a. außerdem die Komplementbindungsreaktion und Langsamagglutination ausgeführt. Titer über 200 galten hierbei als beweisend für das Vorliegen einer Banginfektion. Nur 7 Seren zeigten in den drei Untersuchungsverfahren ein gleichmäßig positives Ergebnis. In 34 Fällen stimmte das Ergebnis der Klärungsreaktion nur mit der Komplementbindung überein. Der Rest zeigte auch zwischen Klärungsreaktion und der Komplementbindung keine Übereinstimmung.

Nach diesen Ergebnissen erkennt Schellner die Meinicke-Klärungs-Reaktion wohl als ergänzendes diagnostisches Hilfsmittel an, betont aber ausdrücklich, daß sie an Stelle der Agglutination nicht treten kann.

2. Eigene Untersuchungen.

A. Untersuchungen mit Hilfe der Langsamagglutination.

a) Beschreibung der Technik der Langsamagglutination.

Das einwandfreie Serum wurde, wenn es nicht sofort verarbeitet werden konnte, zur Vermeidung der Hämolyse und Zersetzung vom Blutkuchen abgeschüttet und der besseren Haltbarkeit wegen im Kühlraum aufbewahrt.

Zunächst wurden 5 Verdünnungen hergestellt: 1 : 5, 1 : 10,

1 : 20, 1 : 40, 1 : 80. Wenn bei der Verdünnung 1 : 80 noch eine Agglutination feststellbar war, wurden noch zwei weitere Verdünnungen (1 : 100 und 1 : 200) hergestellt.

Die Herstellung der erstgenannten 5 Verdünnungen erfolgte nach der Kettenmethode in der Weise, daß mittels Pipette jeweils ein Agglutinationsröhrchen mit 2 ccm und weitere 4 Röhrchen mit 1 ccm Testflüssigkeit beschickt wurden, worauf die 2 ccm Testflüssigkeit im ersten Röhrchen mit 0,4 ccm Serum (Verdünnung 1 : 5), 1 ccm dieser Mischung mit dem Inhalt (1 ccm) des nächsten Röhrchens (Verdünnung 1 : 10), davon wiederum 1 ccm mit dem Inhalt des dritten Röhrchens (Verdünnung 1 : 20) usf. gut gemischt wurde. Bei den Verdünnungen 1 : 100 und 1 : 200 ging ich von einer Grundverdünnung des Serums von 1 : 10 mit Karbolkochsalzlösung aus und mischte gleichbleibende Mengen von Testflüssigkeit (1 ccm) mit fallenden Mengen von Serum (0,1 und 0,05). Das Ablesen erfolgte nach 24stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur bei Tageslicht mit unbewaffnetem Auge, ergänzungshalber in Zweifelsfällen nach weiteren 24 Stunden unter gleichen Verhältnissen.

Herstellung der Testflüssigkeit: zu ca. 10 Liter Karbolkochsalzlösung (auf 10 Liter aqua dest. 85 gr NaCl + 55 ccm Karbol) wurde durch Glaswattefilter Bang-Stammtest bis zur vom Reichsgesundheitsamt vorgeschriebenen Dichte zugefügt. Vergleichsflüssigkeit bestehend aus 97 Teilen 1%iger Schwefelsäure und 3 Teilen Bariumchlorid (1%ig). Die gebrauchsfertige Testflüssigkeit wurde im Kühlraum aufbewahrt.

b) Untersuchungen.

Zur Untersuchung gelangten die Blutproben von 2519 Pferden. Diese setzen sich zusammen aus 1832 Militärpferden von verschiedenen Plätzen Süddeutschlands und 687 Einfuhrpferden. Letztere wurden eingeführt aus Rumänien, Österreich, Ungarn und Jugoslavien. Sämtliche Proben waren zur serologischen Untersuchung auf Rotz bezw. Beschälseuche an die Veterinärpolizeiliche Anstalt in Schleißheim zur Einsendung gelangt.

Im folgenden habe ich die deutschen Pferde (Militärpferde) und die Einfuhrpferde getrennt behandelt, um etwaige Unterschiede in der Höhe der Titer feststellen zu können.

Deutsche Pferde (Militärpferde).

Die Langsamagglutination wurde mit dem aktiven Serum von 1832 Militärpferden vorgenommen.

Die Agglutinationsergebnisse habe ich in nachstehender Tabelle zusammengefaßt, in der jeweils der höchste Titer vermerkt ist.

Tabelle 1.

Verdünnung:	In Zahlen:	In Prozenten:
1: 5	215	11,7
1: 10	570	31,1
1: 20	624	34,1
1: 40	259	14,1
1: 80	106	5,8
1:100	19	1,0
1:200	4	0,2

35 Proben (= 1,9%) agglutinierten überhaupt nicht.

Ausländische Pferde (Einfuhrpferde).

Es wurde mit dem aktiven Serum von 687 Pferden die Langsamagglutination vorgenommen, deren Ergebnis nachstehende Tabelle zeigt.

Tabelle 2.

Verdünnung:	In Zahlen:	In Prozenten:
1: 5	162	23,6
1: 10	245	35,7
1: 20	181	26,3
1: 40	65	9,6
1: 80	14	2,0
1:100	5	0,7
1:200	—	—

15 Proben (= 2,2%) agglutinierten überhaupt nicht.

Auswertung.

Wenn man trotz des Mengenunterschiedes des untersuchten Materials (1882 Militär- und 687 Einfuhrpferde) vergleichend betrachtet, so überwiegen bei den Einfuhrpferden die Blutproben mit Titern bis 1:10, während andererseits die Militärpferde von der Verdünnung 1:20 ab einen größeren Prozentsatz stellen. In der Verdünnung 1:200 agglutinierten von den Militärpferden noch 4 (= 0,2%), aber keines der Einfuhrpferde.

Wie gesagt ist ein Vergleich infolge der so verschiedenen Anzahl der untersuchten Pferde nur bedingt möglich. Es erübrigt sich daher eine Erklärung dafür geben zu wollen, um nicht zu Schlüssen zu kommen, die den Tatsachen widersprechen, da bei beiden Gruppen von Pferden die Infektionsmöglichkeiten nicht bekannt waren.

Zum Vergleich mit den Untersuchungen anderer Autoren fasse ich die Agglutinationsergebnisse der Militär- und Einfuhrpferde in einer Tabelle zusammen.

Tabelle 3.

Verdünnung:	In Zahlen:	In Prozenten:
1: 5	377	15,0
1: 10	815	32,4
1: 20	805	32,0
1: 40	324	12,9
1: 80	120	4,8
1:100	24	0,95
1:200	4	0,16

50 Proben (= 2,0%) agglutinierten überhaupt nicht.

Diese Ergebnisse decken sich mit den Untersuchungen von Rinjard und Hilger, Fitch, Delez und Boyd und Schoop, soweit überhaupt ein Vergleich möglich ist.

Jeder dieser drei Autoren setzt aber einen besonderen Grenztiter fest. Obwohl also die Untersuchungen von Rinjard und Hilger mit denen von Schoop weitgehend übereinstimmen — bei beiden Forschern agglutinierten zur Kontrolle mituntersuchte Pferde zu ganz geringem Prozentsatz im Höchstfalle bei einer Verdünnung 1:50, während Pferde mit Widerrist- und Genickleiden in 87 bezw. 64% noch in der Verdünnung 1:100 bis 1:5000 agglutinierten —, nehmen Rinjard und Hilger die Grenze bei 1:50 an, während nach Schoop erst Werte von 1:200 an als positiv anzusehen sind. Ebenfalls mit kleinem Vergleichsmaterial arbeiteten auch Fitch, Delez und Boyd, die bei Pferden mit Widerrist- und Genickleiden in 91,3%, bei den Kontrollpferden in 6,3% der Fälle Agglutinationstiter von 1:100 und darüber feststellten. Sie sehen einen Agglutinationswert von 100 für positiv an. (Näheres siehe unter Literatur.)

Schellner stellte die ersten planmäßigen Untersuchungen an und kam hierbei zu Ergebnissen, die allerdings durch meine Untersuchungen nicht voll bestätigt werden konnten. Von 6000 mit der Komplementbindungsmethode untersuchten Pferden waren 30 positiv. Von diesen hatten nur 18 einen Agglutinationstiter von 1:200 und darüber. Auf die Gesamtzahl der Pferde gerechnet ergäbe das den geringen Prozentsatz von 0,3%, der dem von mir festgestellten (0,16%) entspräche. In der Verdünnung 1:100 und darüber agglutinierten von den 30 Serumproben 29 Proben. Wenn man den Grenztiter bei der Verdünnung 1:100 annähme, bestände also zwischen bei-

den Untersuchungsmethoden weitgehende Übereinstimmung, da ja von den 30 Pferden nur eines unter 1:100 agglutinierte. Die Komplementbindungsmethode hat somit in diesen Versuchen Schellners mit großer Zuverlässigkeit die Blutproben mit einem Agglutinationstiter von 1:100 und darüber erkannt. Ca. 0,5% der Gesamtfälle Schellners entsprächen dann den ca. 1,1% meiner Untersuchungen.

Warum aber Schellner den Grenztiter erst bei 1:200 annahm, erklärt sich aus seinen Agglutinationsversuchen mit 200 Seren klinisch gesunder Pferde, die sich auch im Komplementbindungsversuch als negativ erwiesen hatten. Während nämlich von den 200 Seren Schellners 22,5% in der Verdünnung 1:100 (und 27,5% in der Verdünnung 1:64) agglutinierten, reagierte von den von mir untersuchten 2519 Seren nur 1% bei der Verdünnung 1:100 (und 4,8% bei der Verdünnung 1:80). Hier gehen die Ergebnisse Schellners und meine Ergebnisse am meisten auseinander.

Unter diesen Umständen ist natürlich für Schellner eine angenommene Titergrenze bei 1:100 undenkbar, da in diesem Falle 23% von klinisch gesunden Tieren mit Brucella Bang behaftet sein müßten. Das Gleiche gilt für Krüger, der gleich Schellner die Grenze bei 1:200 zieht. Neben Versuchen mit den Seren chirurgisch kranker und mit Widerrist- und Genickschäden behafteter Pferde, bei denen er teilweise außerordentlich hohe Agglutinationswerte erhielt, untersuchte er die Seren von 100 klinisch gesunden Pferden, von denen sogar 26% in der Verdünnung 1:100 agglutinierten (49% bei den Verdünnungen 1:50 und 25% keine Agglutination zeigten).

Mit den Untersuchungsergebnissen von Schellner und Krüger stimmen auch die von Hieronymi und Gilde, Gilde, Berge und Haupt nicht überein. Bei ersteren Autoren agglutinierten von 105 teils gesunden und teils mit verschiedenen äußeren und inneren Leiden behafteten Pferden keines in der Verdünnung 1:50 und nur 2,9% in der Verdünnung 1:100 und darüber. Auch Berge und Haupt sehen auf Grund ihrer Untersuchungen den Grenztiter bei 1:100 und fügen noch hinzu, daß ihrer Ansicht nach ein Titer von 1:50 als „fraglich negativ" zu bewerten sei. Von 232 klinisch gesunden Pferden reagierten ebenfalls nur 2,6% bei der Verdünnung 1:100 und darüber (2,2% bei 1:100 und 0,4% bei 1:200). Obwohl Leskova bei der Langsamagglutination von 185 Seren allerdings durchweg chirurgisch kranker Pferde (darunter auch Widerrist- und Genickleiden) hohe Werte erhielt (33,5% reagierten bei 1:100 und darüber), schließt er aus der Tatsache, daß eine größere Anzahl von Pferden nur bei den Verdünnungen 1:50, 1:100 und 1:150 positiv reagierten und daß bei der von ihm angewandten Serumschnellagglutination eine starke Ausflockung in 90% der Fälle mit einem Agglu-

tinationstiter von 1 : 100 und darüber verbunden war, daß der Grenztiter sich wahrscheinlich bei 1 : 100 befindet, dem arithmetischen Mittel (98) der drei genannten Verdünnungen.

Besonders auffallend sind die Abweichungen der Untersuchungsergebnisse von Schellner und Krüger einerseits und denen der oben erwähnten Autoren und den meinen andererseits. Als Erklärung dafür läßt sich nur die Verschiedenartigkeit der Agglutinationsmethoden, der Bereitung und Dichte des Testes, der Beschaffenheit des Serums usw. anführen. Bei meinen Untersuchungen, die nach der Kettenmethode durchgeführt wurden, kam nur einwandfreies Serum und frisches standardisiertes Bangtest zur Verwendung, womit eine größtmögliche Genauigkeit der Ergebnisse gewährleistet werden sollte.

Auf Grund der vergleichenden Betrachtung der bereits mitgeteilten Untersuchungsergebnisse und meiner eigenen Feststellungen schließe ich mich der Meinung der Autoren an, die bei einer Agglutination von 1 : 100 eine positive Serodiagnose stellen.

Untersuchungen mit inaktiviertem Serum.

Wie auch Gilde in seiner Dissertation 1935 mitteilt, haben Fitch, Bishop und Boyd festgestellt, daß durch Erwärmen des Serums auf 56° C die Agglutinine nicht zerstört werden.

Diese Feststellung genannter Autoren kann ich weitgehend bestätigen. Ich habe 1117 aktive und durch $^1/_2$ stündigen Aufenthalt im Wasserbad von 56 bis höchstens 58° C inaktivierte Seren geprüft und folgende Agglutinationsergebnisse erhalten.

Tabelle 4.

Verdünnung:	Aktives Serum in		Inaktiviertes Serum in	
	Zahlen	Prozenten	Zahlen	Prozenten
0	18	1,6	25	2,2
1 : 5	214	19,2	205	18,4
1 : 10	412	37,3	428	38,3
1 : 20	307	27,5	292	26,1
1 : 40	119	10,7	110	9,8
1 : 80	30	2,6	48	4,3
1 : 100	9	0,8	7	0,6
1 : 200	3	0,3	2	0,2
	1 117		1 117	

Abgesehen von geringgradigen Abweichungen besteht zwischen den Agglutinationstitern des aktiven und inaktivierten Serums weitgehende Übereinstimmung. Die kleinen Abweichungen dürften in den Grenzen normaler Schwankungen und Fehler liegen.

B. Langsamagglutination und Serumschnellagglutination nach Diernhofer.

a) Beschreibung der Technik der Serumschnellagglutination.

Um Fehlergebnisse sicher auszuschließen wurde nur klares Serum verwendet. Als Test wurde die gefärbte Originaltestflüssigkeit von Diernhofer benützt.

Ich habe 3 Verdünnungen hergestellt:
Verdünnung I = 4 Tropfen Serum + 1 Tropfen unverdünnter Test,
Verdünnung II = 2 Tropfen Serum + 2 Tropfen verdünnter Test,
Verdünnung III = 2 Tropfen Serum + 2 Tropfen unverdünnter Test.

(Die Verdünnung des Testes betrug 2:1, also 2 Teile Test + 1 Teil Karbolkochsalzlösung.) Es wurden jeweils mittels Pipette zunächst 4 bezw. 2 Tropfen des zu untersuchenden Serums und dann die entsprechenden Tropfen Test auf einen Objektträger gebracht, gut verrührt und erwärmt. Bei langsamen Hindurchfahren mit einem wagerecht gehaltenen feinen Glasstab trat dann nach mehr oder weniger kurzer Zeit eine verschieden starke Ausflockung ein. Als „stark" bezeichnete ich eine Reaktion, bei der nach Verrühren und Erwärmen (oder schon während dessen) nach in der Regel 1—3 maligen Hindurchfahren mit dem Glasstab eine mit dem freien Auge sehr deutlich sichtbare Ausflockung auftrat. Als „mittel" bezeichnete ich eine Reaktion, die gleichfalls noch eine mit dem freien Auge leicht sichtbare, oft aber erst nach mehreren Sekunden und öfteren Hindurchfahren eintretende, und als „schwach" eine solche, die eine nicht selten erst nach 1—2 Minuten eintretende und mit dem unbewaffneten Auge nicht immer leicht erkennbare Ausflockung zeigte.

b) Untersuchungen.

Die Serumschnellagglutination wurde mit den Seren von 617 Pferden in 3 Verdünnungen durchgeführt. Bei der Verdünnung I reagierten von diesen 461 Seren = 74,7% (94 Seren stark = 15,2%, 239 Seren mittel = 38,7% und 128 Seren schwach = 20,7%). Eine Serumprobe, die bei der nachfolgenden Langsamagglutination den Titer 1:200 aufwies, reagierte erst in der Verdünnung II und III. In keiner der drei Verdünnungen reagierten 155 Seren = 25,3%.

Bei der Verdünnung II reagierten 222 Seren = 36% (30 Seren stark = 4,9%, 107 Seren mittel = 17,3% und 85 Seren schwach = 13,8%).

Bei Verdünnung III, die Diernhofer zur Serodiagnose vorschreibt, zeigten noch 89 Seren = 14,4% eine Ausflockung (17 Seren stark = 2,8%, 32 Seren mittel = 5,2% und 40 Seren schwach = 6,5%).

Auswertung.

Zum Vergleich mit der Langsamagglutination, die anschließend gemacht wurde, habe ich die genauen Ergebnisse beider Untersuchungsmethoden in nachfolgender Tabelle 5 zusammengefaßt:

Tabelle 5.

Reaktion nach Diernhofer.

Langsamagglutination		Verdünnung I			Verdünnung II			Verdünnung III			Keine Reaktion nach Diernhofer
Anzahl der Seren:	Verdünnung:	stark	mittel	schwach	stark	mittel	schwach	stark	mittel	schwach	
149	1:5	1	11	32	—	1	1	—	—	—	105
250	1:10	13	119	82	2	29	29	—	2	4	36
144	1:20	42	89	13	11	47	44	6	12	24	—
46	1:40	26	18	1	10	23	10	5	14	9	1
11	1:80	9	2	—	4	6	1	2	4	3	—
3	1:100	3	—	—	3	—	—	3	—	—	—
1	1:200	—	—	(1)	—	1	—	1	—	—	—

13 Proben zeigten nach beiden Untersuchungsmethoden keine Reaktion.

Wenn ich die drei Stärkegrade der Ausflockung und vergleichsweise die Anzahl der bei den einzelnen Verdünnungen der Langsamagglutination reagierenden Seren als Ausgangszahl (100%) zusammenfasse, erhalte ich in Zahlen und Prozenten ausgedrückt und auf die Anzahl der Seren bei den einzelnen Verdünnungen der Langsamagglutination, auf die Gesamtsumme 617 und die bei der Verdünnung III reagierenden positiven Fälle bezogen, das in Tabelle 6 zusammengestellte Ergebnis.

Tabelle 6.
Reaktion nach Diernhofer.

Langsamagglutination Anzahl der Seren:	Verdünnung:	Anzahl der Seren:	Verdünng. II	Verdünng. III	Verd. III Gesamts. 617 (100 %)	Verd. III positive Fälle 89 (100 %)
149	1 : 5	149 (100 %)	2 (1,3 %)	—	—	—
250	1 : 10	250 („)	60 (24 %)	6 (2,4 %)	1,0 %	6,7 %
144	1 : 20	144 („)	102 (70,8 %)	42 (29,2 %)	6,7 %	47,2 %
46	1 : 40	46 („)	43 (93,8 %)	28 (60,9 %)	4,6 %	31,5 %
11	1 : 80	11 („)	11	9 (81,8 %)	1,5 %	10,1 %
3	1 : 100	3 („)	3	3	0,5 %	3,4 %
1	1 : 200	1 („)	1	1	0,16 %	1,1 %

Die Verdünnungen I und II, die nach diesen Ergebnissen für die Festlegung eines Grenztiters wegen der starken Reaktionsbreite nicht geeignet sind, lasse ich im folgenden fortfallen und führe nur die mit der Verdünnung III gewonnenen Ergebnisse an, wobei ich die „schwachen" Reaktionen unberücksichtigt lasse.

Tabelle 7.
Reaktion nach Diernhofer.

Langsamagglutination: Anzahl der Seren:	Verdünnung:	Zahl der Seren:	Verdünnung III	Verdünnung III Gesamtsumme 617 (100 %)	Verdünnung III positive Fälle 49 (100 %)
149	1 : 5	149 (100 %)	—	—	—
250	1 : 10	250 („)	2 (0,8 %)	0,3 %	4,1 %
144	1 : 20	144 („)	18 (12,5 %)	2,9 %	36,7 %
46	1 : 40	46 („)	19 (41,3 %)	3,1 %	38,8 %
11	1 : 80	11 („)	6 (54,5 %)	1,0 %	12,2 %
3	1 : 100	3 („)	3	0,5 %	6,1 %
1	1 : 200	1 („)	1	0,16 %	2,0 %

Auf die Gesamtsumme (617) bezogen agglutinierten bei der Verdünnung III (der Diernhofer-Reaktion) unter der Verdünnung 1:10 der Langsamagglutination kein Serum, bei der Verdünnung 1:10 2 = 0,3%, bis zur Verdünnung 1:20 20 = 3,2%, bis zur Verdünnung 1:40 39 = 6,3%, bis zur Verdünnung 1:80 45 = 7,3% und bis zur Verdünnung 1:100 und darüber 49 = 7,9%.

Auf die positiven 49 Fälle der Verdünnung III bezogen ergibt sich folgender Prozentsatz: Unter der Verdünnung 1:10 agglutinierte kein Serum, bei der Verdünnung 1:10 4,1%, bis zur Verdünnung 1:20 40,8%, bis zur Verdünnung 1:40 79,6%, bis zur Verdünnung 1:80 91,8%, die restlichen 8,2% reagierten bei der Verdünnung 1:100 und darüber.

Zur Sicherheit der Diernhofer-Reaktion (Verdünnung III) bei Pferdeseren läßt sich nach meinen Untersuchungen demnach folgendes sagen: Bei hohen Titern von 1:100 an ist diese stets gegeben, was auch Leskova an zahlreichem Material feststellte. Auch mit den Angaben Diernhofers für die Serodiagnose des Rinderabortus, nach denen eine Ausflockung schon von der Verdünnung 1:50 ab eintritt, stimmen meine Untersuchungen insoferne überein, als 54,5% der Fälle, die bei der Langsamagglutination den Titer 1:80 aufwiesen (und 41,3% der Fälle mit dem Titer 1:40), in der Verdünnung III eine verschieden starke Ausflockung zeigten.

Obwohl aber im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Pferde nur 3,2% bis zur Verdünnung 1:20 der Langsamagglutination eine Ausflockung zeigten (und nur 6,3% bis zur Verdünnung 1:40), so sind es doch andererseits bereits 40,8% bezw. 79,6% der nach Diernhofer positiv reagierenden Fälle, die in der nicht als positiv zu wertenden Titergrenze 1:20 bezw. 1:40 der Langsamagglutination liegen.

Leskova fand von den 407 Seren mit Einkreuzreaktion, die etwa meiner mit „schwach“ bezeichneten Reaktion entspricht, nur 26,6% unter der Verdünnung 1:50 und 43,7% bei der Verdünnung 1:50 reagierend, während ca 90% der Fälle seiner Dreikreuz- und Zweikreuzreaktion einen Titer von 1:100 und darüber aufwiesen. Meine Untersuchungen stimmen demnach mit den Leskovas wenig überein. Zu berücksichtigen wäre allerdings, daß Leskova mit einer anderen Verdünnung (2 Tropfen Serum + 1 Tropfen unverdünnter Test) und ohne Erwärmen bei Zimmertemperatur beider Flüssigkeiten arbeitete.

Übereinstimmend mit den Angaben Leskovas kann ich berichten, daß bei den von mir untersuchten 4 Seren mit dem Titer 1:100 und darüber die Ausflockung in allen 4 Fällen stark und rasch eintrat. Leider ist die Anzahl dieser Seren zu klein, um gleich Leskova aus dieser Tatsache schließen zu können, daß der Grenz-

titer bei 1:100 liegt. Zur Brauchbarkeit des Diernhofertestes für die Serodiagnose der Pferdebruzellose läßt sich abschließend sagen, daß der von mir verwendete Diernhofertest sich als zu stark empfindlich erwiesen hat, da der weit größere Prozentsatz der Seren sogar unter der Verdünnung 1:50 agglutinierte.

Untersuchungen mit inaktiviertem Serum.

Mit denselben 617 Seren wurde nach $^1/_2$stündigem Erhitzen auf 56° C nochmals die Serumschnellagglutination in den gleichen 3 Verdünnungen und die Langsamagglutination vorgenommen.

Von diesen 617 Seren reagierten bei der Verdünnung I 444 Seren = 72% (69 Seren stark = 11,2%, 234 Seren mittel = 37,9% und 141 Seren schwach = 22,9%). Eine Serumprobe mit dem Agglutinationstiter 1 : 200 reagierte erst bei der Verdünnung II und III. Keine Reaktion bei den 3 Verdünnungen zeigten 172 Seren = 28%.

Bei der Verdünnung II zeigten 191 Seren = 31% (23 Seren stark = 3,7%, 72 Seren mittel = 11,7% und 96 Seren schwach = 15,6%) und bei der Verdünnung III noch 66 Seren = 10,7% (11 Seren stark = 1,8%, 23 Seren mittel = 3,7% und 32 Seren schwach = 5,2%) eine Ausflockung.

Der besseren Vergleichsmöglichkeit halber mit der Langsamagglutination habe ich wiederum die genauen Ergebnisse beider Methoden in Tabellenform dargestellt. (Siehe Tabelle 8.)

20 Proben zeigten nach beiden Untersuchungsmethoden keine Reaktion.

Wenn ich die drei Stärkegrade der Ausflockung und vergleichsweise die Anzahl der bei den einzelnen Verdünnungen der Langsamagglutination reagierenden Seren als Ausgangszahl (= 100%) zusammenfasse, erhalte ich in Zahlen und Prozenten ausgedrückt und auf die Anzahl der Seren bei den einzelnen Verdünnungen der Langsamagglutination, auf die Gesamtsumme 617 und die bei der Verdünnung III reagierenden Fälle bezogen, das in Tabelle 9 zusammengestellte Ergebnis.

Im folgenden lasse ich die hier weniger interessierenden Verdünnungen I und II und die als „schwach" bezeichneten Fälle unberücksichtigt. (Vergl. Tabelle 10.)

Auf die Gesamtsumme 617 bezogen reagierten demnach bei der Verdünnung III nach Diernhofer unter der Verdünnung 1:20 der Langsamagglutination kein Serum. Bei der Verdünnung 1 : 20 reagierten 8 Seren = 1,3%, bis zur Verdünnung 1 : 40 25 = 4,1%, bis zur Verdünnung 1 : 80 31 = 5,1% und bis zur Verdünnung 1 : 100 und darüber 34 = 5,5%.

Tabelle 8.

Langsamagglutination:		Reaktion nach Diernhofer									Keine Reaktion
Anzahl der Seren:	Verdünnung:	Verdünnung I			Verdünnung II			Verdünnung III			nach Diernhofer
		stark	mittel	schwach	stark	mittel	schwach	stark	mittel	schwach	
149	1:5	—	5	29	—	—	1	—	—	—	115
248	1:10	7	119	87	1	9	37	—	—	1	35
137	1:20	30	82	24	6	35	45	3	5	17	1
50	1:40	24	24	1	10	22	12	4	13	10	1
10	1:80	7	3	—	5	4	1	2	4	4	—
2	1:100	1	1	—	1	1	—	1	1	—	—
1	1:200	—	—	(1)	—	1	—	1	—	—	—

Tabelle 9.

Langsamagglutination:		Reaktion nach Diernhofer:				
Anzahl der Seren:	Verdünnung	Anzahl der Seren:	Verdünnung II	Verdünnung III	Verdünnung III Gesamtsumme 617 (100 %)	Verdünnung III positive Fälle 66 (100 %)
149	1 : 5	149 (100 %)	1 (0,7 %)	—	—	—
248	1 : 10	248 („)	47 (19,0 %)	1 (0,4 %)	0, 1 (6) %	1,5 %
137	1 : 20	137 („)	86 (62,8 %)	25 (18,2 „)	4, 1 %	37,9 %
50	1 : 40	50 („)	44 (88,0 %)	27 (54,0 „)	4, 4 %	40,9 %
10	1 : 80	10 („)	10	10	1, 6 %	15,2 %
2	1 : 100	2 („)	2	2	0, 3 %	3,0 %
1	1 : 200	1 („)	1	1	0,16 %	1,5 %

Tabelle 10.

Langsamagglutination:		Reaktion nach Diernhofer			
Anzahl der Seren:	Verdünnung:	Anzahl der Seren:	Verdünnung III	Verdünnung III Gesamtsumme 617 (100 %)	Verdünnung III positive Fälle 34 (100 %)
149	1:5	149 (100 %)	—	—	—
248	1:10	248 („)	—	—	—
137	1:20	137 („)	8 (5,8 %)	1,3 %	23,5 %
50	1:40	50 („)	17 (34,0 %)	2,8 %	50,0 %
10	1:80	10 („)	6 (60,0 %)	1,0 %	17,6 %
2	1:100	2 („)	2	0,3 %	5,9 %
1	1:200	1 („)	1	0,16 %	2,9 %

Auf die positiven 34 Fälle der Verdünnung III bezogen ergibt sich folgender Prozentsatz: Unter der Verdünnung 1:20 reagierte kein Serum. Bei der Verdünnung 1:20 25,5%, bis zur Verdünnung 1:40 73,5%, bis zur Verdünnung 1:80 91,2%, nur die restlichen 8,8% reagierten bei der Verdünnung 1:100 und darüber.

Bei der Serumschnellagglutination sind beim Vergleich obiger Ergebnisse mit denen der Untersuchungen mit aktivem Serum Verschiedenheiten festzustellen.

Im Gegensatz zur Langsamagglutination, bei der keine wesentlichen Differenzen auftraten, zeigten sich bei der Serumschnellagglutination mehr negative Fälle, während andererseits bei den positiven Fällen ein Rückgang zu bemerken war.

Auch in der Gesamtheit ist durch das Inaktivieren der Prozentsatz der positiven Seren kleiner geworden. Während von den 617 aktiven Seren bei der Verdünnung III der Serumschnellagglutination 49 Seren = 7,9% eine Ausflockung zeigten, reagierten von der gleichen Anzahl inaktivierter Serumproben nur 34 Seren = 5,5%. Es bestätigte sich somit die bekannte Beobachtung, daß unspezifische Reaktionen (Normalagglutinine) durch Inaktivieren der Seren ausgeschaltet werden können.

Der Vollständigkeit halber möchte ich zum Schluß dieses Kapitels noch die Ergebnisse der neben der im nächsten Kapitel zu behandelnden Meinicke-Reaktion auch nach der Serumschnellagglutination nach Diernhofer geprüften 195 aktiven Seren bringen.

Ich habe diese Ergebnisse nicht mit den der anfangs dieses Kapitels behandelten 617 aktiven Seren zusammengefaßt, um einen Vergleich der gleichen Mengen aktiver und inaktiver Seren zu ermöglichen.

Von diesen 195 Seren reagierten bei der Verdünnung I 139 Seren = 71,3% (22 Seren stark = 11,3%, 67 Seren mittel = 34,4% und 50 Seren schwach = 25,6%). Bei der Verdünnung II zeigten 66 Seren = 33,9% (13 Seren stark = 6,7%, 31 Seren mittel 15,9% und 22 Seren schwach = 11,3%) und bei der Verdünnung III noch 42 Seren = 21,6% (15 Seren stark = 7,7%, 13 Seren mittel = 6,7% und 14 Seren schwach = 7,2%) eine Ausflockung. Keine Reaktion zeigten 56 Seren = 28,7%.

Im Vergleich mit der Langsamagglutination reagierten in den 3 Verdünnungen der Schnellagglutination folgende Anzahl von Seren bei folgenden Verdünnungen der Langsamagglutination (siehe Tabelle 11):

Zwei Seren zeigten nach beiden Untersuchungsmethoden keine Reaktion.

Unter Zusammenfassung der 3 Werte stark, mittel und schwach und vergleichsweise der Anzahl der Seren bei den einzelnen Ver-

Tabelle II.

Langsamagglutination		Reaktion nach Diernhofer									Keine Reaktion nach Diernhofer
Anzahl der Seren:	Verdünnung:	Verdünnung I			Verdünnung II			Verdünnung III			
		stark	mittel	schwach	stark	mittel	schwach	stark	mittel	schwach	
12	1:5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12
64	1:10	—	14	22	—	1	4	—	—	—	28
71	1:20	7	31	21	1	10	13	—	6	4	12
30	1:40	10	15	4	5	13	4	5	5	8	1
11	1:80	4	5	1	4	5	1	5	2	2	1
3	1:100	1	2	—	2	1	—	3	—	—	—
2	1:200	—	—	2	1	1	—	2	—	—	—

dünnungen der Langsamagglutination als Ausgangszahl (= 100%) ergibt sich, bezogen wiederum

1.) auf die Anzahl der bei den einzelnen Verdünnungen der Langsamagglutination reagierenden Seren,

2.) auf die Gesamtzahl 195 und

3.) auf die bei Verdünnung III positiven Fälle, die nachstehende tabellarische Zusammenstellung (Tabelle 12).

Bei Weglassen der Verdünnung I und II und der „schwachen" Fälle ergibt sich die Tabelle 13.

Auf die Gesamtsumme 195 bezogen reagierten bei der Verdünnung III (der Diernhofer-Reaktion) unter der Verdünnung 1:20 der Langsamagglutination kein Serum, bei der Verdünnung 1:20 6 Seren = 3,1%, bis zur Verdünnung 1:40 16 Seren = 8,2%, bis zur Verdünnung 1:80 23 Seren = 11,8% und bis zur Verdünnung 1:100 und darüber 28 Seren = 14,4%.

Auf die positiven 28 Seren der Verdünnung III bezogen ergibt sich folgender Prozentsatz: Unter der Verdünnung 1:20 der Langsamagglutination reagierte kein Serum. Bei der Verdünnung 1:20 21,4%, bis zur Verdünnung 1:40 57,1%, bis zur Verdünnung 1:80 82,1%, die restlichen 17,9% reagierten bei der Verdünnung 1:100 und darüber.

Wenn auch diese Ergebnisse mit denen der vorher geprüften 617 aktiven Seren nicht in allen Teilen übereinstimmen in der Richtung, daß die Diernhofer-Reaktion bei den letzten Untersuchungen an zahlenmäßig allerdings viel kleinerem Material etwas besser abschneidet, so ändert dies aber im großen Ganzen nichts an dem anfangs zu diesem Kapitel Gesagtem.

Der größere Prozentsatz der nach der Verdünnung III positiven Fälle geht parallel zu den zahlenmäßig ebenfalls vermehrten höheren Titern der Langsamagglutination.

C) Langsamagglutination und Meinicke-Reaktion.

a) Beschreibung der Technik der Meinicke-Reaktion.

Die Meinicke-Reaktion wurde genau nach der Anweisung des Reichsgesundheitsamts zur Ministerialbekanntmachung über die Bekämpfung des seuchenhaften Verkalbens (Banginfektion des Rindes) vom 23. Dezember 1936 (Nr. 653 b 86) durchgeführt.

Die Reaktion wurde mit aktiven Seren in kleinen Zentrifugenröhrchen mit gleichmäßig gewölbter Kuppe ausgeführt. Der Extrakt (MKR II extra stark), der verwendet wurde, war von der Adler Apotheke in Hagen i. W. geliefert worden. Als Antigen kam das mit Hilfe der Komplementbindung ausgewertete und vom Reichs-

Tabelle 12.

Langsamagglutination		Reaktion nach Diernhofer				
Anzahl der Seren:	Verdünnung:	Anzahl der Seren:	Verdünnung II	Verdünnung III	Verdünnung III Gesamtsumme 195 (100 %)	Verdünnung III positive Fälle 42 (100 %)
12	1 : 5	12 (100 %)	—	—	—	—
64	1 : 10	64 („)	5 (7,8 %)	—	—	—
71	1 : 20	71 („)	24 (33,8 „)	10 (14,1 %)	5,1 %	23,8 %
30	1 : 40	30 („)	22 (73,3 „)	18 (60,0 „)	9,2 „	42,9 „
11	1 : 80	11 („)	10 (90,9 „)	9 (81,8 „)	4,6 „	21,4 „
3	1 : 100	3 („)	3	3	1,5 „	7,1 „
2	1 : 200	2 („)	2	2	1,0 „	4,8 „

Tabelle 13.

Langsamagglutination		Reaktion nach Diernhofer			
Anzahl der Seren	Verdünnung:	Anzahl der Seren	Verdünnung III	Verdünnung III Gesamtsumme 195 (100 %)	Verdünnung III positive Fälle 28 (100 %)
12	1 : 5	12 (100 %)	—	—	—
64	1 : 10	64 („)	—	—	—
71	1 : 20	71 („)	6 (8,5 %)	3,1 %	21,4 %
30	1 : 40	30 („)	10 (33,3 „)	5,1 „	35,7 „
11	1 : 80	11 („)	7 (63,6 „)	3,6 „	25,0 „
3	1 : 100	3 („)	3	1,5 „	10,7 „
2	1 : 200	2	2	1,0 „	7,2 „

gesundheitsamt, Veterinärmedizin. Abteilung Berlin-Dahlem geprüfte 2%ige Antigen zur Verwendung.

Die Zubereitung der Lösungen geschah folgendermaßen: Der Extrakt wurde mit 3,5%iger Kochsalzlösung, die mindestens alle 3 Tage frisch hergestellt wurde, nach vorhergehendem Erwärmen beider Flüssigkeiten auf 55—56° C im Verhältnis von 1 ccm Extrakt auf 10 ccm Kochsalzlösung verdünnt. Die richtige Temperatur war erreicht, wenn ein Thermometer in einem mit Wasser gefüllten Kontrollröhrchen, das man gleichzeitig mit dem Reagenzröhrchen in das Wasserbad gestellt hatte, die Temperatur von 56° C anzeigte. Das Wasserbad wurde auf 57° eingestellt. Nach erfolgter Erwärmung auf 56° C wurde die Kochsalzlösung schnell in das Extraktröhrchen gegossen, der Inhalt sofort wieder zurückgekippt und das Ganze noch einmal in das Extraktröhrchen umgegossen. Es wurde darauf geachtet, daß das Mischen schnell ausgeführt und keine Flüssigkeit verschüttet wurde. Die Verdünnung wurde sodann noch einmal für genau 2 Minuten zum Nachreifen in das Wasserbad zurückgestellt und dann erst einpipetiert. Der Versuch wurde in 2 Serien angesetzt. In der einen, der Kontrollserie, benützt man eine mit reiner 3,5%igen Kochsalzlösung bereitete Extraktverdünnung, in der zweiten, der Hauptserie, hat man der Kochsalzlösung vorher Bangantigen in einer seiner Wertigkeit entsprechenden Menge hinzugefügt. (In unserem Falle, bei dem das Antigen eine Wertigkeit für die Meinicke-Reaktion von 2% Lösung hatte, wurden also zu 0,2 ccm Antigen 10 ccm 3,5%ige Kochsalzlösung hinzugefügt.) Von den beiden Extraktverdünnungen (mit und ohne Antigen) wurden je 0,7 ccm in Röhrchen gegeben, in welche inzwischen je 0,1 ccm Serum einpipetiert worden war. Zuerst wurden die Kontrollröhrchen und danach die Hauptröhrchen aufgefüllt und sodann gründlich durchschüttelt. Zum schnelleren Arbeiten wurden die 0,7 ccm laufend auf die Pipette markiert.

Beispiel: Wenn 76 Röhrchen gleichzeitig zentrifugiert werden können, dann benötigt man folgende Mengen von Extrakt, Antigen usw.:

1. Glas. 25 ccm 3,5% Kochsalzlösung + Antigen — Hauptserie
2. Glas: 2,5 ccm Extrakt MKR II extra stark
3. Glas: 25 ccm 3,5%ige Kochsalzlösung (ohne Antigen)
4. Glas: 2,5 ccm Extrakt MKR II extra stark. — Kontrollserie

Alle 4 Gläser getrennt erwärmen, Mischen von Glas 1 und 2 (Hauptserie), sowie Glas 3 und 4 (Kontrollserie), nachreifen lassen, dann je 0,7 ccm auf die Seren auffüllen. Jede Reihe gibt etwa 27,5 ccm Extraktverdünnung, die für 38 Proben reicht.

Unmittelbar nach dem Ansetzen der Versuche wurden die Röhrchen 20 Minuten lang bei 2000 Umdrehungen zentrifugiert.

Nach dem Zentrifugieren wurde die auf den Sedimenten stehende Flüssigkeit vorsichtig abgegossen, dann wurden die Röhrchen mit dem Boden nach oben in ein Reagenzglasgestell gestellt und nach 20 Minuten abgelesen. (Negative Proben können sofort beurteilt werden.) Zur Beurteilung wurde das Verhalten der Sedimente beim Blick von oben auf den Röhrchenboden betrachtet, außerdem wurden die Versuchsgestelle gegen ein Fenster gehalten um festzustellen, ob etwa die Sedimente zum Teil an der Wand des Glases heruntergelaufen waren. Da das Herunterfließen manchmal in einem verhältnismäßig schmalen Streifen erfolgt (Fahne), wurde jedes einzelne Gläschen hin- und hergedreht, um keine Streifen zu übersehen.

Bei negativen Seren ist das Sediment in langem weißlich-bläulichen Schleier oder als Fahne an der Wand des Glases herabgelaufen. Bei positiven Fällen hebt sich das knopfartige, scharf umschriebene Sediment am Boden des Röhrchens ab; die Röhrchen sind vollständig klar. Wenn sich das Sediment deutlich verbreitert hat oder wenn die Wand des Glases nicht völlig klar ist, so ist die Reaktion als zweifelhaft anzusehen.

Wenn in Ausnahmefällen das Sediment in beiden Röhrchen, also auch in den Kontrollröhrchen, nicht auslief, wurde in den angegebenen Fällen die Untersuchung dieser eigenhemmenden Seren in einer abgeschwächten Versuchsordnung wiederholt. Diese Abschwächung wurde dadurch erzielt, daß zu 0,1 ccm Serum statt 0,7 ccm Extraktverdünnung größere Mengen, z. B. 1 ccm oder 1,5 ccm usw. hinzugefügt wurden.

b) Untersuchungen.

Zur Untersuchung kamen 1. Seren, die nach unten beschriebenen Gesichtspunkten nach vorausgegangener Langsamagglutination und Diernhofer-Reaktion ausgewählt wurden, 2. Seren, bei denen zuerst die Meinicke-Reaktion vorgenommen wurde und nur die reagierenden Fälle weiter verarbeitet wurden und 3. Seren, die sämtlich nach den drei genannten Methoden untersucht wurden.

1. Von 309 Serumproben wurden diejenigen ausgewählt, die bei der Langsamagglutination bei der Verdünnung 1:20 „einwandfrei positiv" reagierten, oder deren Titer höher lag. Außerdem wurden die Proben verwendet, bei denen die Langsamagglutination mit der Reaktion nach Diernhofer irgendwie nicht übereinstimmte. Es waren dies 64 Proben, bei denen die Reaktion nach Meinicke durchgeführt wurde.

Von den genannten 64 Proben reagierten bei der Meinicke-Reaktion positiv 14 (= 21,9%), dazu kommt eine Probe mit Eigenhemmung, die nicht ausgewertet wurde.

Keine Reaktion zeigten 49 Seren (= 76,5%). Die genauen Ergebnisse vergleichend mit den Titern der Langsamagglutination sind aus folgender Tabelle ersichtlich.

Tabelle 14.

Langsamagglutination		Reaktion nach Meinicke		
Anzahl der Seren:	Verdünnung:	positiv	zweifelhaft	negativ
34	1:20	4	—	30
23	1:40	5 (+ 1 EH)	—	17
5	1:80	3	—	2
1	1:100	1	—	—
1	1:200	1	—	—

Von 34 Seren mit dem Titer 1:20 reagierten nach der Meinicke-Reaktion positiv 4 Seren = 11,8%, von 22 Seren mit dem Titer 1:40 5 Seren = 22,7%, von 5 Seren mit dem Titer 1:80 3 Seren = 60%, ebenso zwei Seren mit dem Titer 1:100 und 200.

Nachdem also 11,8% der Seren mit dem Titer 1:20 reagiert hatten, wollte ich feststellen, ob bei einer positiven Meinicke-Reaktion auch noch niedrigere Agglutinationswerte auftreten würden.

2. Im Folgenden machte ich daher zuerst mit den einwandfreien aktiven Seren von 136 Blutproben die Meinicke-Reaktion. Von diesen reagierten 22 (= 16,2%), bei denen dann die Langsamagglutination (und die im nächsten Kapitel vergleichend mit der Meinicke-Reaktion behandelte Reaktion nach Diernhofer) vorgenommen wurde. Die Langsamagglutination ergab folgende Titer:

Tabelle 15.

Langsamagglutination		Reaktion nach Meinicke		
Anzahl der Seren:	Verdünnung:	positiv	zweifelhaft	negativ
2	1:5	2	—	—
2	1:10	2	—	—
11	1:20	10	1	—
5	1:40	4	1	—
—	1:80	—	—	—
2	1:100	2	—	—

Von den 20 nach der Meinicke-Reaktion positiven Fällen hatten demnach je 10% einen Titer von 1:5 bezw. 1:10, 50% einen Titer von 1:20, 20% einen Titer 1:40 und 10% den Titer 1:100.

3. Da diese Art von Untersuchungen mit ausgewähltem Material einwandfreie Vergleiche nicht zuließ, habe ich 195 Seren sämtlich nach den drei Methoden geprüft.

Die Ergebnisse der Meinicke-Reaktion vergleichend mit der Langsamagglutination habe ich in folgender Tabelle zusammengefaßt:

Tabelle 16.

Langsamagglutination		Reaktion nach Meinicke		
Anzahl der Seren:	Verdünnung:	positiv	zweifelhaft	negativ
12	1:5	—	—	12
64	1:10	2	1	61
71	1:20	4 (+ 1 EH)	2	64
30	1:40	3 (+ 2 EH)	2	23
11	1:80	4 (+ 2 EH)	—	5
3	1:100	1 (+ 1 EH)	—	1 (!)
2	1:200	2	—	—

Zwei Seren zeigten nach beiden Untersuchungsmethoden keine Reaktion.

Wenn man von den 5 Fällen mit zweifelhafter Reaktion absehen will, sind von den 195 Seren nach der Meinicke-Reaktion 16 positiv, dazu kämen noch 6 Fälle mit Eigenhemmung. Bei 4 von diesen trat bei der Auswertung die Lösung der Kontrolle vor der des Hauptversuches ein.

1. Hauptversuch positiv bis 2, Kontrolle Lösung bei 1,5 (Langsamagglutination 1:80, Diernhofer-Reaktion „schwach"),

2. Hauptversuch positiv bis 1,5, Kontrolle Lösung bei 1,5 (Langsamagglutination 1:40, Diernhofer-Reaktion positiv),

3. Hauptversuch positiv bis 1,5, Kontrollösung bei 1,5 (Langsamagglutination 1:80, Diernhofer-Reaktion positiv),

3. Hauptversuch positiv bis 1,5, Kontrollösung bei 1,5 (Langagglutination 1 : 20, Diernhofer-Reaktion positiv),

5. Hauptversuch positiv bis 1,5, Kontrollösung bei 2,0 (Langsamagglutination 1 : 40, Diernhofer-Reaktion negativ),

6. Hauptversuch positiv bis 12 (!) ausgewertet, Kontrollösung bei 1!

(Langsamagglutination 1 : 100, Diernhofer-Reaktion positiv).

Von diesen angeführten 6 Fällen mit Eigenhemmung werte ich Fall 6 als positiv. (Fall 1, 2 und 3 könnte man als „zweifelhaft" bezeichnen).

Im folgenden lasse ich die zweifelhaften Fälle und die Eigen-

hemmungen bis auf die als positiv zu wertende unberücksichtigt.

In Zahlen und Prozenten ausgedrückt ergibt sich, bezogen auf die Anzahl der bei den einzelnen Verdünnungen der Langsamagglutination reagierenden Seren, auf die Gesamtzahl 195 der untersuchten Seren und auf die Anzahl der nach der Meinicke-Reaktion positiven Seren, das in Tabelle 17 dargestellte Bild.

Tabelle 17.

Langsamagglutination		Reaktion nach Meinicke		
Anzahl der Pferde	Verdünnung:	positiv	Gesamtsumme 195 (100 %)	Positive Fälle 17 (100 %)
12	1 : 5	—	—	—
58	1 : 10	2 (3,4 %)	1,0 %	11,8 %
66	1 : 20	4 (6,1 „)	2,0 „	23,5 „
25	1 : 40	3 (12,0 „)	1,5 „	17,6 „
8	1 : 80	4 (50,0 „)	2,0 „	23,5 „
3	1 : 100	2 (66,7 „)	1,0 „	11,8 „
2	1 : 200	2	1,0 „	11,8 „

Zwei Seren reagierten nach keinem der beiden Untersuchungsverfahren.

Auf die Gesamtsumme (195) bezogen reagierte nach der Meinicke-Reaktion bis zur Verdünnung 1 : 10 der Langsamagglutination kein Serum, bei der Verdünnung 1 : 10 positiv 2 Seren = 1,0%, bis zur Verdünnung 1 : 20 6 Seren = 3,0%, bis zur Verdünnung 1 : 40 9 Seren = 4,6%, bis zur Verdünnung 1 : 80 13 Seren = 6,7%, bis zur Verdünnung 1 : 100 und darüber 17 Seren = 8,7%.

Auf die nach der Meinicke-Reaktion positiven 17 Fälle bezogen ist der Prozentsatz folgender: Unter der Verdünnung 1 : 10 reagierte kein Serum, bei der Verdünnung 1 : 10 positiv 11,8%, bis zur Verdünnung 1 : 20 35,3%, bis zur Verdünnung 1 : 40 52,9%, bis zur Verdünnung 1 : 80 76,4%, die restlichen 23,6% reagierten bei der Verdünnung 1 : 100 und darüber.

Auswertung.

Die Anweisung des Reichsgesundheitsamtes zur Ministerialbekanntmachung über die Bekämpfung des seuchenhaften Verkalbens etc., die ich in der Einleitung zitierte, schreibt zur Serodiagnose des durch Brucella Bang bedingten Rinderabortus bei einem als zweifelhaft anzusehenden Titer 1 : 50 die Durchführung der Meinicke-Reaktion vor, deren Ergebnis dann entscheidet.

Zur Serodiagnose der Pferde-Brucellose ist diese Methode aber kaum anwendbar, da, wie es die letztangeführten Untersuchungen beweisen, bereits über 50% der positiven Fälle schon bis zu einem Titer 1 : 40 reagieren (bei den vorher beschriebenen Untersuchungen (1 und 2) ist der Prozentsatz noch wesentlich höher!).

Will man die Ergebnisse meiner Untersuchungen zur Festlegung des Grenztiters verwenden, so ist es auch hier die geringe Anzahl positiver Fälle mit hohen Agglutinationstitern, die einen klaren Schluß nicht zuläßt. Von insgesamt 9 Seren mit dem Titer 1 : 100 und darüber haben 8 ausnahmslos positiv reagiert, 1 Serum mit dem Titer 1 : 100 reagierte negativ.

Zur Festlegung eines Grenztiters bei 1 : 100 sind also meine Untersuchungen mit der Meinicke-Reaktion nicht geeignet. Sie könnten im Gegenteil nur dazu anregen, die Grenze bei 1 : 50 zu ziehen, da schon weit über 50% der positiven Fälle unter der Verdünnung 1 : 50 reagierte.

Die neueren Untersuchungen von Schellner (29), die nach Abschluß meiner Arbeit zur Veröffentlichung kamen, stimmen nicht in Allem mit den von mir erhobenen Ergebnissen überein. Auch wenn man berücksichtigt, daß Schellner die Meinicke-Klärungs-Reaktion mit wesentlich größerem Material ausführte, so ist doch der viel geringere Prozentsatz seiner Meinicke-positiven Fälle beachtenswert. Außer der Meinicke-Klärungs-Reaktion hat Schellner nur in ausgewählten Fällen weitere Reaktionen durchgeführt, so hat er u. a. mit den hier interessierenden Meinicke positiven und verdächtigen Fällen die Langsamagglutination (und die Komplementbindungsreaktion) vorgenommen. Nur in 7 von 97 Fällen konnte eine Übereinstimmung der Meinicke-Klärungs-Reaktion mit der Agglutination (und der Komplementbindungsreaktion) festgestellt werden (Titergrenze 1 : 200!), während in weiteren 34 Fällen die Meinicke-Klärungsreaktion nur mit der Komplementbindungsreaktion übereinstimmte (der Rest reagierte nur nach der Meinicke-Klärungs-Reaktion).

Von Interesse wären hier besonders die Agglutinationstiter der 34 nach der Meinicke-Klärungs-Reaktion und der Komplementbindungsreaktion reagierenden Seren. Leider hat Schellner darüber keine Angaben gemacht. Aus der Tatsache, ob sich der Titer über 1 : 100 oder darunter befindet, hätten über die Titergrenze wichtige Schlüsse gezogen werden können.

D. Meinicke- und Diernhofer-Reaktion.

Mit den gleichen Seren, mit denen die im vorigen Kapitel behandelte Meinicke-Reaktion und Langsamagglutination durchge-

führt wurde, nahm ich auch die Reaktion nach Diernhofer in den bekannten 3 Verdünnungen vor.

1. Zur Untersuchung kamen zunächst die 64 Seren, die nach den im vorigen Kapitel angeführten Gesichtspunkten aus 309 Serumproben ausgewählt wurden.

Die Ergebnisse der Meinicke- und Diernhofer-Reaktion sind vergleichend in nachstehender Tabelle niedergelegt, wobei ich hier nur die von Diernhofer vorgeschriebene Konzentration (Verdünnung III) berücksichtigte.

Tabelle 18.

Anzahl der Seren:	Reaktion nach Diernhofer:	Reaktion nach Meinicke positiv	zweifelhaft	negativ
23	positiv	9 (+ 1 EH)	—	13
15	„schwach" (zweifelh.)	1	—	14
26	negativ	4	—	22

Von den 14 Seren, die nach der Meinicke-Reaktion positiv reagierten, erwiesen sich 9 Seren nach der Diernhofer-Reaktion ebenso als positiv. Eine Serumprobe reagierte schwach (zweifelhaft) und 4 überhaupt nicht.

Umgekehrt reagierten von den 23 Seren, die nach der Diernhofer-Reaktion positiv waren, die obengenannten 9 Seren positiv. Die restlichen 13 Seren waren nach der Meinicke-Reaktion negativ.

Nur schwache bezw. keine Reaktion nach beiden Methoden zeigten 36 Seren.

Die 14 nach der Meinicke-Reaktion positiven Seren hatten bei der Langsamagglutination folgende Titer:

1 : 20 = 4
1 : 40 = 5
1 : 80 = 3
1 : 100 = 1
1 : 200 = 1.

Nach der Diernhofer-Reaktion reagierten positiv 23 Seren mit folgenden Titern:

1 : 20 = 7
1 : 40 = 12
1 : 80 = 2
1 : 100 = 1
1 : 200 = 1.

Nach beiden Methoden zeigten 9 Proben eine positive Reaktion:

Langsamagglutination: Verdünnung:	Positiv nach Meinicke und Diernhofer:
1 : 20	1
1 : 40	5
1 : 80	1
1 : 100	1
1 : 200	1.

2. Sodann untersuchte ich die von 136 Seren nach der Meinicke-Reaktion reagierenden 22 Seren auch nach der Diernhofer-Reaktion.

Auch in nachstehender Tabelle ist nur die Verdünnung III der Diernhofer-Reaktion angeführt.

Tabelle 19.

Anzahl der Seren:	Reaktion nach Diernhofer	Reaktion nach Meinicke positiv	zweifelhaft	negativ
4	positiv	4	—	—
5	„schwach" (zweifelh.)	4	1	—
13	negativ	12	1	—

Von den 20 Seren, die nach der Meinicke-Reaktion positiv waren, reagierten nach der Diernhofer-Reaktion 4 Seren ebenso. Weitere 4 Seren reagierten „schwach" (zweifelhaft) und 12 überhaupt nicht.

Die genannten 20 Seren hatten bei der Langsamagglutination bis zu folgenden Verdünnungen agglutiniert:

1 : 5 = 2
1 : 10 = 2
1 : 20 = 10
1 : 40 = 4
1 : 80 = —
1 : 100 = 2.

Die nach der Diernhofer-Reaktion positiven 4 Seren hatten einmal bei der Verdünnung 1 : 20 und zweimal bei der Verdünnung 1 : 40 reagiert. 1 Serum mit dem Agglutinationstiter 1 : 100 reagierte ebenfalls positiv (stark).

Positive Reaktionen nach beiden Methoden zeigten die ebengenannten 4 Seren, von denen nur 1 Serum mit dem Titer 1 : 100 nach beiden Methoden positiv reagierte (das zweite Serum mit dem

Titer 1 : 100 reagierte bei positiver Meinicke-Reaktion nach der Diernhofer-Reaktion nur „schwach“ = zweifelhaft), 2 Seren mit dem Titer 1 : 40 und 1 Serum mit dem Titer 1 : 20 reagierten nach beiden Methoden positiv.

Diese Ergebnisse sind nur bedingt verwertbar, da es sich um ausgesuchte Seren handelt und infolgedessen ein absoluter Vergleich der drei Methoden nicht möglich ist.

3. Zur Ergänzung wurden daher 195 Seren ohne Ausnahme nach den drei Methoden untersucht.

Um einen ganz einwandfreien Vergleich zu ermöglichen, müßte ich die Ergebnisse aller 3 Methoden vollzählig anführen, was ich aber aus Gründen der Einfachheit und Raumersparnis unterlassen möchte.

Ich bringe dafür wie bisher in der Besprechung der Ergebnisse der Meinicke- und Diernhofer-Reaktion auch die entsprechenden Ergebnisse der Langsamagglutination. (Eine Tabelle mit den genauen Ergebnissen der Langsamagglutination, Meinicke-Reaktion und Diernhofer-Reaktion liegt zur Einsicht bei der Originalarbeit).

Die Ergebnisse der Meinicke- und Diernhofer-Reaktion veranschaulicht folgende Tabelle:

Tabelle 20.

Anzahl der Seren:	Reaktion nach Diernhofer:	Reaktion nach Meinicke positiv	zweifelhaft	negativ
28	positiv	6 (+ 4 EH)	—	18
14	„schwach“ (zweifelh.)	2 (+ 1 EH)	2	9
21	negativ	8 (+ 1 EH)	3	9

Von den 28 Seren, die nach der Diernhofer-Reaktion positiv reagierten, reagierten nach der Meinicke-Reaktion nur 6 ebenso, dazu kommen 4 Eigenhemmungen, von denen die eine als positiv gewertet wurde (siehe voriges Kapitel).

21 Seren reagierten also nicht entsprechend.

Von den nach der Meinicke-Reaktion positiven 16 Seren reagierten ebenso nach der Diernhofer-Reaktion die oben genannten 6 Seren. Von den 6 Eigenhemmungen reagierten nach der Diernhofer-Reaktion 4 positiv (darunter die positiv gewertete), je eine war „schwach“ bezw. negativ.

Die 28 Seren, die nach der Diernhofer-Reaktion positiv reagierten, verteilen sich unter folgende Titer der Langsamagglutination:

1 : 20 = 6
1 : 40 = 10

1 : 80 = 7
1 : 100 = 3
1 : 200 = 2.

Die nach der Meinicke-Reaktion positiven Seren haben folgende Agglutinationstiter (die Eigenhemmungen sind mit Ausnahme der als positiv gewerteten nicht berücksichtigt):

1 : 10 = 2
1 : 20 = 4
1 : 40 = 3
1 : 80 = 4
1 : 100 = 2
1 : 200 = 2.

Nach der Diernhofer- und Meinicke-Reaktion reagierten positiv 7 Seren (einschl. die als positiv (stark) gewertete Eigenhemmung) mit folgenden Titern:

Langsam-agglutination: Verdünnung:	Positiv nach Diernhofer und Meinicke:
1 : 40	1
1 : 80	2
1 : 100	2
1 : 200	2.

Auswertung.

Wenn man die Ergebnisse der beiden vorigen Kapitel, in denen der Vergleich der Langsamagglutination mit der Diernhofer- und Meinicke-Reaktion u. a. nach Untersuchung der letztangeführten 195 Seren ausführlicher behandelt wurde, hier mitverwertet, so kommt man zu folgenden Schlüssen:

Ob überhaupt einer bezw. welcher der beiden Methoden, der Meinicke- oder der Diernhofer-Reaktion, der Vorzug zu geben ist, kann ich auf Grund meiner Untersuchungen nicht entscheiden.

Zwar hatte in der Regel ein größerer Prozentsatz der nach der Meinicke-Reaktion positiven Fälle höhere und hohe Titer und zwar war der Prozentsatz der Meinicke-positiven Fälle bezogen auf die Gesamtsumme der untersuchten Seren geringer als bei der Diernhofer-Reaktion und kam näher zu den der Langsamagglutination heran.

Andererseits aber versagte die Meinicke-Reaktion in einem Falle gerade da, wo es darauf ankam.

Wenn man von diesem Ausfall der Meinicke-Reaktion bei einem Serum mit dem Titer 1 : 100 absehen will, waren nach meinen Untersuchungen bei Agglutinationswerten von 100 und darüber in 100% der Fälle positive Werte nach beiden Unter-

suchungsmethoden aufgetreten. Bei Berücksichtigung der anderen Ergebnisse verliert aber diese Tatsache so an Bedeutung, daß man aus ihr keinen Schluß für die Festlegung eines Grenztiters ziehen kann.

Schlußbetrachtung.

Aus den Ergebnissen meiner Untersuchungen kann man ersehen, daß auch für die Sero-Diagnose der Pferdebrucellose die Langsamagglutination immer noch die beste Methode ist.

Die Diernhofer und Meinicke-Reaktion geben in der Regel bei Titern von 1 : 100 und darüber mit der Langsamagglutination übereinstimmende Ergebnisse.

Wenn auch die Anzahl der Meinicke- und Diernhofer- positiven Fälle bei Seren mit hohen Titern nicht so groß ist, um etwaige Zufallsergebnisse ganz ausschalten zu können und wenn auch der Diernhofertest sich in der verwendeten Konzentration als zu empfindlich und auch die Meinicke-Reaktion vergleichend mit der Langsamagglutination sich als ungeeignet erwiesen hat, fragliche oder zweifelhafte Langsamagglutinationsergebnisse zu klären oder die Festlegung eines Grenztiters bei der Pferdebrucellose zu ermöglichen, so glaube ich mir doch auf Grund meiner Untersuchungen folgendes Urteil bilden zu können:

Wenn sich also auch die Meinicke- und Diernhofer-Reaktion wegen ihrer großen Reaktionsbreite als sehr unzuverlässig erwiesen hat, so kann man doch aus der Tatsache, daß ein unverhältnismäßig hoher Prozentsatz der Meinicke- und Diernhofer-positiven Fälle bis zum Titer 1 : 50 der Langsamagglutination reagierten, den Schluß ziehen, daß der Titer 1 : 50 nicht als negativ betrachtet werden kann. Es ist als sicher anzunehmen, daß sich bei diesem Titer auch positiv zu wertende Seren befinden können. Ich schließe mich somit weitgehend der Meinung der Autoren an, die den Titer 1 : 50 als „fraglich negativ" oder „zweifelhaft" oder gar „zweifelhaft nach der positiven Seite" ansehen.

Agglutinationswerte von 100 und darüber halte ich nicht allein auf Grund der Ergebnisse der Langsamagglutination für positiv, da von 1 : 100 ab auch die Langsamagglutination mit der Diernhofer- und Meinicke-Reaktion immer übereinstimmte. (Nur in einem Falle blieb die Meinicke-Reaktion aus).

Ich möchte nochmals hervorheben, daß ich zu diesen Ergebnissen nur auf Grund der angeführten serologischen Untersuchungsmethoden gekommen bin, wie ich es mir auch zum Ziel gesetzt habe.

Zusammenfassung.

1. Die Ergebnisse der Langsamagglutination, die mit 2519 Pferdeseren durchgeführt wurde, zeigten mit den der meisten Autoren weitgehende Übereinstimmung.

2. Meine Untersuchungen mit Hilfe der Langsamagglutination sprechen dafür, daß bei einem Titer von 1 : 100 eine Brucellose-infektion vorliegt oder vorgelegen hat.

3. Die Diernhofer- und Meinicke-Reaktion hat sich zur Festlegung eines Grenztiters bei der Pferdebrucellose als wenig brauchbar erwiesen.

*

Am Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Direktor Prof. Dr. Beck für die Überlassung des Themas und für die Förderung meiner Untersuchungen meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Schrifttum.

1. Bennets, H. W., and J. F. Filmer: A note on the association of Bacillus abortus with suppurations in the horse. Austral. vet. Journ. J. 7. p. 74—75 (1931) Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 51 p 1143 (1932).
2. Berge, E. und H. Haupt: Über das Vorkommen von Abortusbrucellose bei Pferden Mitteldeutschlands und ihre Bedeutung bei Widerrist- und Genickfisteln. Berl. tierärztl. Wschr. 1937 p. 97—100.
3. Duff, Hugh Mackenzie: Brucella abortus in the horse. Journ. comp. Path. and Ther. J. 346 p. 42—46 (1933). Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 53 p. 157 (1933).
4. Duff, Hugh Mackenzie: Widerristfistel und Genickbeule durch Brucella Abortus. The Vet. Record J. 16 p. 175—77 (1936). Ref. Wien. tierärztl. Wschr. J. 23 p. 502 (1936).
5. Fitch, C. P., A. L. Delez and W. L. Boyd: Preliminary report on the relation of Bakt. Abort. Bang to fistulae, pollevil and other suppurations of horses. Journ. amer. vet. med. Assoc. 76 p. 17—24 (1930). Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 50 p. 1144 (1930) z. T. zitiert nach Gilde.
6. Fitch, C. P., Bishop, L. and W. L. Boyd: Report of further work on the relation of Bakt. abortus Bang to fistula and poll-evil of horses. Journ. amer. vet. med. Assoc. 80 p. 69—70 (1932). Ref. Centr. Bl. f. Bakt. J. 108 p. 399 (1933).
7. Fontaine und Lütje: Beiträge zur Spezifitätsfrage der Komplementbindungsmethode bei der Rotzkrankheit. Zeitschr. f. Vet. Kunde. J. 31 p. 1 (1919).
8. Freund, E.: Untersuchungen über die Verbreitung der Banginfektion bei Pferden. Hannover. Diss. 1935.
9. Gilde, H.: Die Bangbrucellose des Pferdes als Ursache von Widerrist- und Genickleiden. Berl. Diss. 1935.
10. Hermann, O., Chluszow, K., Lipatow, L. und Dmitriew A.: Brucellose in Armenien insbesondere bei Pferden und Mischinfektionen bei letzteren von Brucellose und Paratyphus Abortus. Berl. tierärztl. Wschr. J. 50 p. 68—69 (1934).
11. Hieronymi, E.: Die Brucella-Bang-Infektion des Pferdes und ihre Beziehung zu chirurgischen Leiden in der Widerrist- und Genickgegend. Dtsch. tierärztl. Wschr. J. 40 p. 593—595 (1932).
12. Hieronymi, E. und H. Gilde: Die Brucella-Bang-Infektion beim Pferde als Ursache von Widerrist- und Genickschäden. Ztsch. f. Inf.-Krankh. d. Haust. J. 47 p. 24 (1935).

13. van der Hoeden: Der Abortusbacillus des Rindes (Brucella Bang) Krankheitserreger beim Pferd. Tijdschr. Diergeneesk. J. 57 p. 15—34 (1930). Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 50 p. 1143 (1931).
14. van der Hoeden: Weitere Untersuchungen über Brucella-Infektionen bei Pferden. Tijdschr. Diergeneesk. J. 58 p. 1321—29 (1931). Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 51 p. 1143 (1932).
15. van der Hoeden: Brucella-Bang-Infektionen beim Pferde. Ztschr. f. Inf. Krankh. d. Haust. J. 42 p. 1 (1932).
16. Hultén, O.: Bang-Infektion beim Pferd. Sv. Veterinärtidskr. J. 36 p. 25—27 (1931). Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 51 p. 1143 (1932).
17. Jesina, F.: Durch Bang'sche Bacillen verursachte Widerristfisteln bei Pferden. Allatorr. Lapok J. 56 p. 320—322 (1933). Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 54 p. 281 (1934).
18. Krüger: Die Brucellose der Pferde. Dtsch. tierärztl. Wschr. J. 45 p. 182—86 und 198—201 (1937).
19. Lanfranchi, A. und Pacchioni, O.: Contributo sperimentale e clinico alla infezione da Bruc. Abortus negli equini e negli orini. La Nuova Veterinaria J. 12 p. 165—171 (1934). Ref. Tierärztl. Rdschr. J. 40 p. 633 (1934).
20. Leipert: Über einen Fall von Stutenabortus, hervorgerufen durch Corynebakterium abortus Bang. Münch. tierärztl. Wschr. J. 73 p. 453 (1922).
21. Leskova, R.: Positive Bacillus-Abortus-Bang-Agglutination bei Pferden in Wien. Wien. tierärztl. Wschr. J. 24 p. 225—233 (1937).
22. Magnusson, H.: Bursitiden mit Brucella-Infektion beim Pferde. Münch. tierärztl. Wschr. J. 84 p. 474 (1933).
23. Makkawejsky, W. N., J. A. Karkadinowsky, N. J. Michejeff, A. J. Gawriloff und W. G. Dawydowsky: Die Untersuchungen über Banginfektion beim Menschen und bei den Haustieren in gewissen Wirtschaften Weißrußlands. Dtsch. tierärztl. Wschr. J. 39 p. 86—88 (1931).
24. Mc Nutt and Murray: Bakt. abortus Bang isolated from the fetus of an aborting mare. Journ. amer. vet. med. Assoc. J. 65 p. 215 (1924) Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 44 p. 79 (1924).
25. Pfaffe, W.: Über Brucella abortus-Infektion bei Pferden. München. Diss. 1933.
26. Rinjard, P. et A. Hilger: La maledie de Bang ches les équidés. Localisations pyogénes Bull. Acad. vet. France J. 1 p. 272—381 (1928). Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 48 p. 1060 (1929) z. T. zitiert nach Gilde.

27. Sachweh, P.: Infektiöser Abortus der Stuten. Tierärztl. Rdsch. J. 25 p. 218 (1919).
28. Schellner: Über die Brucellose des Pferdes. Systematische serologische Untersuchungen. Tierärztl. Rdsch. J. 40 p. 571—575 (1934).
29. Schellner: Zur Serodiagnose der Brucellose des Pferdes mit besonderer Berücksichtigung der Meinicke-Klärungs-Reaktion. Tierärztl. Rdsch. J. 44 p. 183—185 (1938).
30. Schilling, K. und G. Schmid: Über einen Fall von Brucella Bang-Infektion bei einem Pferd mit Widerristschäden. Schweiz. Arch. f. Tierheilk. J. 77 p. 312—314 (1935). Ref. J. Ber. d. Vet. Med. J. 58 p. 271 (1936).
31. Schoop, G.: Bangbakterieninfektion bei Widerristfistel und Genickbeule des Pferdes. Dtsch. tierärztl. Wschr. J. 40 p. 520 (1932).
32. Schoop, G.: Brucellosen beim Pferd. Dtsch. tierärztl. Wschr. J. 43 p. 547—548 (1935).
33. Stickdorn und Zeh: Der Paratyphusabortus der Stuten und seine Beziehungen zum Rinderabortus. Berl. tierärztl. Wschr. J. 35 p. 365 (1919) z. T. zitiert nach Berge und Haupt.

Lebenslauf.

Ich, Hans Joachim Sczuka, wurde am 29. September 1910 zu Neu-Berun, Kreis Pleß (Ost-Oberschlesien) als Sohn des Hauptlehrers F. Sczuka geboren. Nach 4 Jahren Volksschule in meinem Geburtsort besuchte ich die Human. Gymnasien in Myslowitz, Hindenburg, Breslau und Oppeln. Daselbst bestand ich Ostern 1931 das Abiturientenexamen. Anschließend wandte ich mich dem Studium der Tiermedizin in München zu. Im Jahre 1936 erhielt ich ebenfalls in München meine Approbation.

Mit den Versuchen für die vorliegende Arbeit begann ich im November 1936. Im Juni 1937 wurde sie abgeschlossen.

Druck von Michael Laßleben, Oberpfalz-Verlag, Kallmünz über Regensburg.